



REC'D 06 OCT 2003

WIPO PCT

05 JAN 2005

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 10 JUIL. 2003

Pour le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

BEST AVAILABLE COPY

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 V / 260899

Réservé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES DATE	8 JUIL 2002
LEU	75 INPI PARIS
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI	0208570
DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI	- 8 JUIL. 2002

 Vos références pour ce dossier
(facultatif) B0136FR

 Confirmation d'un dépôt par télécopie N° attribué par l'INPI à la télécopie

2 NATURE DE LA DEMANDE	Cochez l'une des 4 cases suivantes		
Demande de brevet	<input checked="" type="checkbox"/>		
Demande de certificat d'utilité	<input type="checkbox"/>		
Demande divisionnaire	<input type="checkbox"/>		
<i>Demande de brevet initiale</i>	N°	Date .. / .. / ..	
<i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i>	N°	Date .. / .. / ..	
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>	<input type="checkbox"/>	Date .. / .. / ..	
	N°		

3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

Composition à base de dérivés de 1,3-diphénylprop-2-en-1-one substitués, préparation et utilisations

4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation Date .. / .. / .. N°
		Pays ou organisation Date .. / .. / .. N°
		Pays ou organisation Date .. / .. / .. N°
		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»
5 DEMANDEUR		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»
Nom ou dénomination sociale		GENFIT
Prénoms		
Forme juridique		Société Anonyme
N° SIREN		4 . 2 . 4 . 3 . 4 . 1 . 9 . 0 . 7 .
Code APE-NAF		7 . 3 . 1 . Z .
Adresse	Rue	Parc Eurasanté - Lille Métropole 885, avenue Eugène Avinée
	Code postal et ville	59120 LOOS
Pays		France
Nationalité		Française
N° de téléphone (facultatif)		
N° de télécopie (facultatif)		
Adresse électronique (facultatif)		

**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 2/2

REPRISE DES PIÈCES		Réervé à l'INPI
DATE		8 JUIL 2002
LIEU		75 INPI PARIS
N° D'ENREGISTREMENT		0208570
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		

DB 540 W /260899

6 Vos références pour ce dossier : (facultatif)		B0136FR	
7 G MANDATAIRE			
Nom		TEZIER HERMAN	
Prénom		Béatrice	
Cabinet ou Société		BECKER ET ASSOCIES	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		00-10000	
Adresse	Rue	35, rue des Mathurins	
	Code postal et ville	75008	PARIS
N° de téléphone (facultatif)		01 53 43 85 00	
N° de télécopie (facultatif)		01 53 43 85 05	
Adresse électronique (facultatif)		btezier@becker.fr	
8 INVENTEUR (S)			
Les inventeurs sont les demandeurs		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée	
9 RAPPORT DE RECHERCHE		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance		Paiement en trois versements, uniquement pour les personnes physiques	
		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non	
10 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requise pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Requise antérieurement à ce dépôt (joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence):	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI	
 TEZIER HERMAN Béatrice n° 00-10000			

COMPOSITION A BASE DE DERIVES DE 1,3-DIPHENYLPROP-2-EN-1-ONE
SUBSTITUES, PREPARATION ET UTILISATIONS

La présente invention concerne des compositions comprenant des dérivés de 1,3-diphénylprop-2-én-1-one substitués et leurs utilisations, notamment dans les domaines de la santé humaine et animale. Les composés de l'invention possèdent des propriétés pharmacologiques anti-oxydantes ainsi que des propriétés d'activation de PPAR α avantageuses. L'invention décrit plus précisément les différentes utilisations de ces composés et des compositions pharmaceutiques et cosmétiques les comprenant. Les composés de l'invention sont utilisables notamment pour prévenir ou traiter les maladies cardiovasculaires, le syndrome X, la resténose, le diabète, l'obésité, l'hypertension, les maladies inflammatoires, les cancers ou néoplasmes (tumeurs bénignes ou malignes), les maladies neurodégénératives, dermatologiques et les désordres liés au stress oxydatif, pour prévenir ou traiter les effets du vieillissement en général et par exemple le vieillissement cutané, notamment dans le domaine cosmétique (l'apparition de rides, etc.).

Les dérivés et/ou compositions de la présente invention peuvent être utilisés notamment pour traiter des maladies mettant en cause des tissus qui expriment PPAR α . Plus précisément, ils permettent avantageusement de traiter des pathologies ou maladies inflammatoires, prolifératives, dégénératives affectant différents organes et tissus, notamment des maladies impliquant une angiogenèse pathologique ou une néovascularisation ainsi que toute pathologie ou désordre (par exemple lié à l'âge) impliquant un stress oxydatif. Les composés de la présente invention peuvent avantageusement être utilisés dans le cadre du traitement de maladies ou de désordres affectant des tissus et/ou organes, indifféremment de la composante étiologique.

Les PPARs, pour « peroxisome proliferator activated receptors », sont des récepteurs nucléaires membres de la super famille des facteurs de transcription activés par les ligands suivants : stéroïdes/thyroïdes/rétinoïdes.

Trois isotypes de PPARs ont été, jusqu'à présent, clonés chez la souris et l'humain : PPAR α , PPAR β/δ et PPAR γ . Chez l'humain si l'expression de PPAR β/δ semble ubiquitaire, il existe une distribution tissulaire différentielle entre PPAR α et γ (Braissant and Wahli 1998). PPAR α est exprimé dans des cellules dont l'activité catabolique des acides gras est élevée ainsi que dans celles avec une forte activité des peroxysomes (hepatocytes, cardiomyocytes, tubules proximaux de rein, muqueuse intestinale). PPAR β/δ est exprimé de façon ubiquitaire et abondante dans la plupart des tissus. L'expression de PPAR γ est quant à elle principalement limitée au tissu adipeux, à certaines cellules du système immunitaire, à la rétine et n'apparaît, dans d'autres organes, qu'à l'état de traces (Braissant and Wahli 1998).

Les PPARs possèdent plusieurs domaines dont les propriétés diffèrent. Un domaine de liaison à l'ADN (DBD) qui reconnaît des séquences spécifiques, également appelées éléments de réponse, localisées dans les régions de régulation de leurs gènes cibles. Comme les autres récepteurs nucléaires, les PPARs possèdent également un domaine de liaison avec un ligand, l'activation des PPARs par leur ligand modulant l'expression des gènes qui contiennent les éléments de réponse spécifiques des PPARs (PPRE) dans la région du promoteur. Pour activer la transcription de leurs gènes cibles, les PPARs activés doivent former un hétérodimère avec un autre récepteur nucléaire RXR (Retinoïd-X-Receptor). Si l'on prend l'exemple de PPAR α , son action est médiée par une classe de composés comme les fibrates qui ont un effet hypolipémiant. Des ligands naturels ont également été identifiés comme par exemple, les acides gras, les eicosanoïdes (leukotriène B₄) et l'acide 8(S)-hydroxyeicosatetraenoïque (Kliewer, Sundseth et al. 1997).

Les PPARs ont été principalement associés au métabolisme des lipides et du glucose. Les activateurs de PPARs, les fibrates par exemple, permettent de réguler le cholestérol plasmatique ainsi que la concentration de triglycérides via l'activation de PPAR α (Hourton, Delerive et al. 2001). Le traitement avec des fibrates entraîne une augmentation de l'oxydation des acides gras au niveau hépatique. Ils réduisent également la synthèse et l'expression des triglycérides (Staels and Auwerx 1998). Les activateurs de PPAR α sont également capables

de corriger une hyperglycémie ainsi que la concentration d'insuline. Les fibrates diminuent par ailleurs la masse du tissu adipeux grâce à un mécanisme indépendant de la prise alimentaire et de l'expression du gène codant pour la leptine (Guerre-Millo, Gervois et al. 2000).

5 L'activation des PPARs par les ligands intervient également dans la régulation de l'expression de gènes participant à des processus comme l'inflammation, l'angiogenèse, la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose et les activités de iNOS, de la MMPase et des TIMPs. L'activation de PPAR α dans des kératinocytes entraîne un arrêt de leur prolifération et 10 l'expression de gènes impliqués dans la différenciation (Komuves, Hanley et al. 2000). Les PPARs ont des propriétés anti-inflammatoires car ils interfèrent négativement dans des mécanismes de transcription impliquant d'autres facteurs de transcription tels que NF- κ B ou les activateurs de la transcription (STAT) et AP-1 (Desvergne and Wahli 1999). Ces propriétés anti-inflammatoires 15 et anti-prolifératives font des PPARs (et notamment de PPAR α) des cibles thérapeutiques d'intérêt pour le traitement de maladies comme les maladies occlusives vasculaires (athérosclérose, etc.), l'hypertension, les maladies liées à une néo-vascularisation (rétinopathies diabétiques, etc.), les maladies inflammatoires (maladie de Bowel, psoriasis, etc.) et les maladies néoplasiques 20 (carcinogenèse, etc.).

Les radicaux libres interviennent dans un spectre très large de pathologies comme les allergies, l'initiation et la promotion cancéreuse, les pathologies cardiovasculaires (athérosclérose, ischémie, etc.), les désordres 25 génétiques et métaboliques (diabète, etc.), les maladies infectieuses et dégénératives (Alzheimer, Parkinson, Prion, etc.), les problèmes ophtalmiques et le vieillissement (Mates, Perez-Gomez et al. 1999).

Les espèces réactives oxygénées (ROS) sont produites pendant le fonctionnement normal de la cellule. Les ROS sont constituées de radicaux hydroxyle (OH), de l'anion superoxyde (O₂^{•-}), du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et de l'oxyde nitrique (NO). Ces espèces sont très labiles et du fait de leur grande réactivité chimique, elles constituent un danger pour les fonctions

biologiques des cellules. Elles provoquent des réactions de peroxydation lipidique, l'oxydation de certains enzymes et des oxydations très importantes des protéines qui mènent à leur dégradation. La protection contre la peroxydation lipidique est un processus essentiel chez les organismes aérobies, car les produits de peroxydation peuvent causer des dommages à l'ADN. Ainsi un dérèglement ou une modification de l'équilibre entre la production, la prise en charge et l'élimination des espèces radicalaires par les défenses antioxydantes naturelles conduisent à la mise en place de processus délétères pour la cellule ou l'organisme.

10

La prise en charge des ROS se fait via un système antioxydant qui comprend une composante enzymatique et une non enzymatique.

15 Le système enzymatique se compose de plusieurs enzymes dont les caractéristiques sont les suivantes :

20 - La superoxyde dismutase (SOD) détruit le radical superoxyde en le convertissant en peroxyde. Ce dernier est lui même pris en charge par un autre système enzymatique. Un faible niveau de SOD est constamment généré par la respiration aérobie. Trois classes de SOD ont été identifiées chez l'homme, elles contiennent chacune du Cu, Zn, Fe, Mn, ou Ni comme cofacteur. Les trois formes de SOD humaines sont réparties de la manière suivante : les Cu-Zn SOD qui sont cytosoliques, une Mn-SOD mitochondriale et une SOD extracellulaire.

25 - La catalase est très efficace pour convertir le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en O_2 . Le peroxyde d'hydrogène est catabolisé de manière enzymatique dans les organismes aérobies. La catalase catalyse également la réduction d'une variété d'hydroperoxydes (ROOH).

30 - La glutathion peroxydase contient du sélénium comme cofacteur et catalyse la réduction d'hydroperoxydes (ROOH et H_2O_2) en utilisant du glutathion. Elle protège ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs.

Les défenses cellulaires antioxydantes non enzymatiques sont constituées par des molécules qui sont synthétisées ou apportées par l'alimentation.

5 Il existe des molécules antioxydantes présentes dans différents compartiments cellulaires. Les enzymes détoxifiantes sont par exemple des molécules chargées d'éliminer les radicaux libres et sont indispensables à la vie de la cellule. Les trois types de composés antioxydants les plus importants sont les caroténoïdes, la vitamine C et la vitamine E (Gilgun-Sherki, Melamed et al.
10 2001).

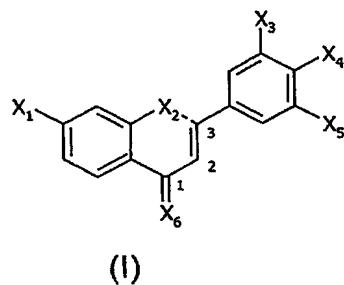
15 Les inventeurs ont mis en évidence que, de manière surprenante, les composés selon l'invention possèdent une activité PPAR α agoniste et des propriétés antioxydantes. Les composés selon l'invention sont donc capables d'interférer avec au moins deux voies de signalisation qui sont activées en particulier pendant l'inflammation : la production de cytokines ainsi que la production de radicaux libres. En agissant de manière synergique les composés selon l'invention représentent un moyen thérapeutique avantageux pour le traitement de pathologies liées à l'inflammation (athérosclérose, allergies, asthme, eczéma, démangeaisons, etc.), aux neurodégénérescences
20 (Alzheimer, Parkinson, etc.), aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique (diabète, athérosclérose, obésité, etc.), à la prolifération/différenciation cellulaire (carcinogenèse, etc.) et aux désordres liés au vieillissement (cutané ou du système nerveux central, etc.).

25 Les inventeurs ont mis en évidence que les composés selon l'invention ont à la fois des propriétés d'activateurs PPAR, d'antioxydants et d'anti-inflammatoires.

30 La présente invention concerne ainsi, des compositions pharmaceutiques comprenant au moins un dérivé de 1,3-diphénylprop-2-én-1-one substitués pour le traitement de pathologies liées à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique, à la prolifération

et/ou à la différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central.

La présente invention a donc notamment pour objet une composition comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, au moins un dérivé de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitué de formule (I) suivante :



10 dans laquelle :

X1 représente un halogène ou un groupement -R1 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G1-R1,

15 X2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement thionitroso ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy ou un groupement alkylcarbonyloxy ou un groupement thiol ou un groupement alkylthio ou un groupement alkylcarbonylthio, X2 peut également représenter un atome d'oxygène ou de soufre lié au carbone 3 de la chaîne propène, pour former un dérivé de type 2-phényl-4H-1-benzopyran-4-one (cette possibilité est représentée dans la formule (I) par les pointillés),

20 X3 représente un groupement -R3 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G3-R3,

25

X4 représente un halogène ou un groupement thionitroso ou un groupement -R4 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G4-R4,

X5 représente un groupement -R5 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G5-R5,

5 X6 est un atome d'oxygène ou un atome d'azote, dans le cas où X6 est un atome d'azote, il porte un atome d'hydrogène ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy,

10 R1, R3, R4, R5, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle substitué ou non par au moins un groupement faisant partie du groupe 1 ou du groupe 2 définis ci-dessous,

G1, G3, G4, G5, identiques ou différents, représentent un atome d' oxygène ou de soufre,

15 avec au moins un des groupements X1, X3, X4 ou X5 répondant à la formule - G-R, et

20 avec au moins un des groupements R1, R3, R4 ou R5 présent sous la forme d'un radical alkyle portant au moins un substituant du groupe 1 ou 2, ledit radical alkyle étant lié directement au cycle ou étant associé à un groupement G selon la formule -GR,

25 les substituants du groupe 1 sont choisis parmi les groupements carboxy de formule : -COOR₆ et les groupements carbamoyle de formule : -CONR₆R₇,

les substituants du groupe 2 sont choisis parmi l'acide sulfonique (-SO₃H) et les groupements sulfonamide de formule : -SO₂NR₆R₇

30 avec R₆ et R₇, identiques ou différents, représentant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle éventuellement substitué par au moins un groupe de type 1 ou 2,

leurs isomères optiques et géométriques, leurs racémates, leurs tautomères, leurs sels, leurs hydrates et leurs mélanges,

à l'exclusion, de préférence, des composés de formule (I) dans laquelle

5 - X_1 , X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_8R_9-COOR_{10}$, avec R_8 et R_9 , identiques ou différents, représentent un radical alkyle de C1-C2, et R_{10} représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7, et

10 - X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_1 représente un atome d'halogène ou un radical R1 ou $-G_1R_1$, où R1 représente un radical alkyle non substitué de C1-C2 et G1 représente un atome d'oxygène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_{11}R_{12}-COOR_{10}$, avec R_{11} et R_{12} , identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C2, et R_{10} représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7,

15

20 Cette composition peut être utilisée notamment pour le traitement ou la prophylaxie d'une pathologie liée à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique, à la prolifération et/ou à la différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central.

25 La présente invention inclut également une composition comprenant des prodrogues des composés de formule (I), qui, après administration chez un sujet, vont se transformer en composés de formule (I), et/ou les métabolites des composés de formule (I) qui présentent des activités thérapeutiques comparables aux composés de formule (I), éventuellement en association avec un autre actif thérapeutique, pour le traitement ou la prophylaxie d'une pathologie liée à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux dérèglements 30 du métabolisme lipidique et/ou glucidique, à la prolifération et/ou à la

différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central.

5 Dans le cadre de la présente invention, les dérivés de formule (I) tels que décrits ci-dessus peuvent adopter la conformation cis ou trans. Une composition selon l'invention peut ainsi comprendre des dérivés correspondant à la conformation cis, trans ou leur mélange.

10 De manière avantageuse, X4 est un groupement thionitroso ou un groupement $-R_4$ ou un groupement répondant à la formule $-G_4-R_4$. Les dérivés de la formule (I) dans lesquels X4 répond à la précédente définition représentent les dérivés de formule générale (II) dans laquelle G4 et R4 sont tels que définis précédemment.

15 De manière avantageuse, X2 est un groupement thionitroso ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy ou un groupement thiol ou un groupement alkylthio. Les dérivés de la formule (I) dans lesquels X2 répond à la précédente définition représentent les dérivés de formule générale (III).

20 D'autres dérivés avantageux de la formule (I) de l'invention ont une formule générale (IV) telle que X4 est un groupement thionitroso ou un groupement $-R_4$ ou un groupement répondant à la formule $-G_4-R_4$ et X2 est un groupement thionitroso ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy ou un groupement thiol ou un groupement alkylthio, G4 et R4 étant tels que définis précédemment.

25 Un autre objet de l'invention concerne des compositions comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, un ou plusieurs dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X1 est un groupement $-G_1-R_1$ dans lequel R1 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, avec G1 et le substituant du groupe 1 étant tels que définis précédemment.

Un autre objet de l'invention concerne des compositions comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, un ou plusieurs dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X4 est un groupement $-G_4-R_4$ où R4 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, avec G4 et le substituant du groupe 1 étant tels que définis précédemment.

Un autre objet de l'invention concerne des compositions comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, un ou plusieurs dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X4 est un groupement $-G_4-R_4$, R4 est tel que défini précédemment et X3 ou X5 représente respectivement R3 ou G3R3, d'une part, et R5 ou G5R5, d'autre part, avec R3 ou R5 qui représente un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini précédemment.

Un autre objet de l'invention concerne des compositions comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, un ou plusieurs dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X1 est un groupement $-G_1-R_1$ dans lequel G1 est un atome d'oxygène et R1 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini précédemment.

Un autre objet de l'invention concerne des compositions comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, un ou plusieurs dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X4 est un groupement $-G_4-R_4$ dans lequel G4 est un atome d'oxygène et R4 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini précédemment.

Un autre objet de l'invention concerne des compositions comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, un ou plusieurs dérivés

de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X4 est un groupement $-G_4-R_4$ dans lequel G4 est un atome d'oxygène, R4 est tel que défini précédemment et X3 ou X5 représente respectivement R3 ou G_3R_3 , d'une part, et R5 ou G_5R_5 , d'autre part, avec R3 ou R5 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini précédemment.

Un autre objet de l'invention concerne des compositions comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, des dérivés de formule (I) dans laquelle au moins un des groupements X1, X3, X4 et X5 comprend une fonction acide ou ester.

Selon la présente invention, le terme "alkyle" désigne plus particulièrement un radical hydrocarboné linéaire, ramifié ou cyclique, halogéné ou non, ayant de 1 à 24, de préférence 1 à 10, atomes de carbone tels que méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, *tert*-butyle, pentyle, néopentyle, n-hexyle. Les groupes en C₁-C₂ ou C₂-C₇ sont particulièrement préférés. Les groupes méthyle et éthyle sont tout particulièrement préférés. Les radicaux alkyle peuvent éventuellement être interrompus par un ou plusieurs substituants du groupe 1 ou 2.

Le terme thionitroso fait référence à un groupement nitroso lié au cycle aromatique par l'intermédiaire d'un atome de soufre.

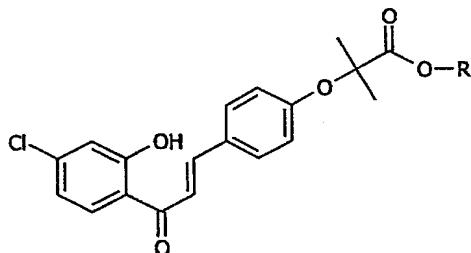
Le terme halogène représente un atome de chlore ou un atome de brome ou un atome d'iode ou un atome de fluor.

Le terme alkyloxy fait référence à une chaîne alkyle liée au cycle par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène. La chaîne alkyle répond à la définition précédemment énoncée.

Le terme alkylthio fait référence à une chaîne alkyle liée au cycle aromatique par l'intermédiaire d'un atome de soufre (liaison thioéther). La chaîne alkyle répond à la définition précédemment énoncée. -

5 Selon un mode particulier de l'invention, les dérivés préférés sont indiqués ci-dessous avec les formules qui leur sont associées :

10 le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]- 3-[4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]prop-2-ène-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]- 3-[4-isopropylloxycarbonyl]diméthylméthyoxyphényl]prop-2-ène-1-one (composé-1)

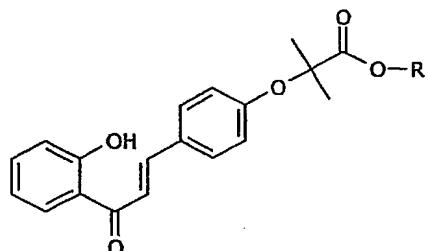


$$R = -H, -CH(CH_3)_2$$

15

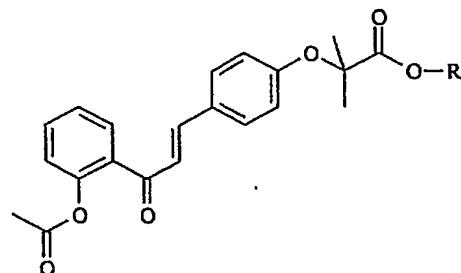
le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]prop-2-ène-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-isopropylloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]prop-2-ène-1-one (compose-2) :

20

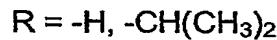


$$R = -H, -CH(CH_3)_2$$

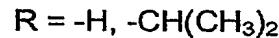
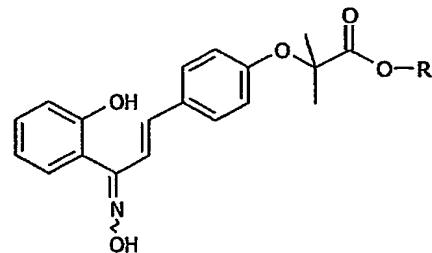
le 1-[2-méthylcarbonyloxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]prop-2-ène-1-one et le 1-[2-méthylcarbonyloxyphényl]-3-[4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]prop-2-ène-1-one (composé-3) :



5

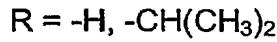
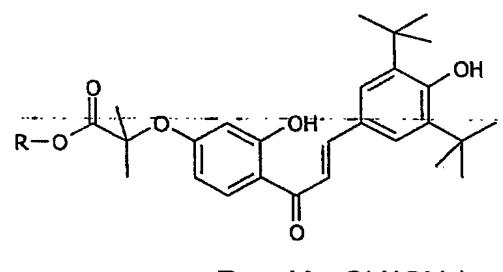


le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]-1-hydroxyiminoprop-2-ène et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]-1-hydroxyiminoprop-2-ène.
10 (composé-4) :

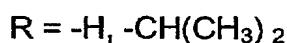
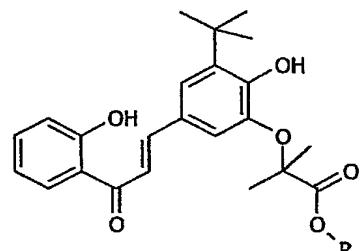


15 le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]-3-[3,5-diterbutil-4-hydroxyphényl]prop-2-ène-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-éthyoxy carbonyl diméthylméthyoxyphényl]-3-[3,5-diterbutil-4-hydroxyphényl]prop-2-ène-1-one (composé-5)

20

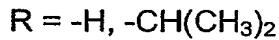
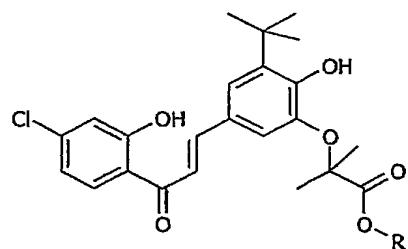


le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyoxy-4-hydroxy-5-
 5 *tert*butylphényl]prop-2-én-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-
 isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxy-4-hydroxy-5-*tert*butylphényl]prop-2-én-
 1-one (compose-6) :



10

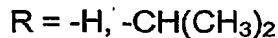
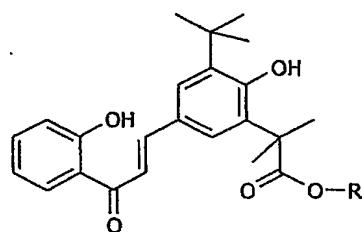
le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyoxy-4-hydroxy-5-*tert*butylphényl]prop-2-én-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3-
 15 isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxy-4-hydroxy-5-*tert*butylphényl]prop-2-én-
 1-one (compose-7) :



20

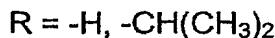
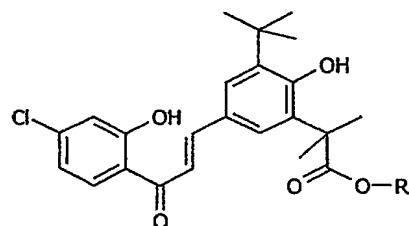
le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyl-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-isopropoxycarbonyldiméthylméthyl-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one (composé-8) :

5

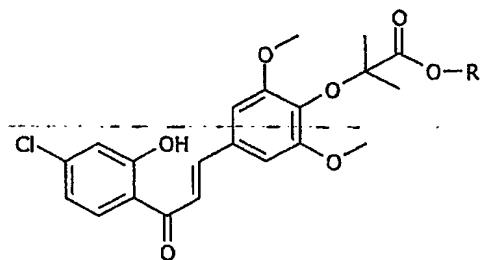


10 le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyl-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3-isopropoxycarbonyldiméthylméthyl-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one (composé-9) :

15

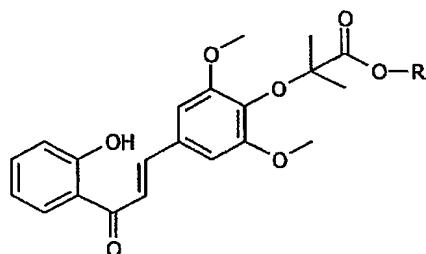


20 le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-carboxydiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-isopropoxycarbonyldiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-10) :



$R = -H, -CH(CH_3)_2$

le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-isopropoxycarbonyldiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-11) :



$R = -H, -CH(CH_3)_2$

10 le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-isopropoxycarbonyldiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-di-méthoxy-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-12):

15

$R = -H, -CH(CH_3)_2$

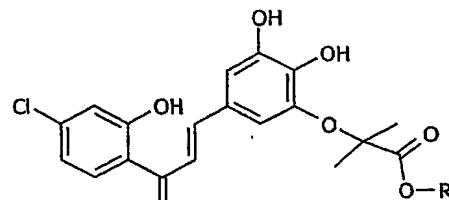
20 le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,4-dihydroxy-5-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-

chlorophényl]-

3-[3,4-dihydroxy-5-

isopropoxy carbonyldiméthylméthoxyphényl]- 2-propen-1-one (composé-13) :

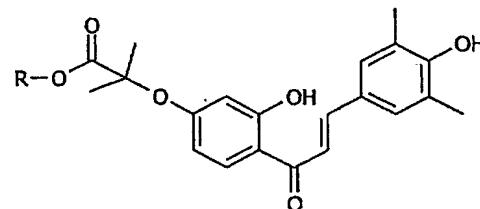
5

 $R = -H, -CH(CH_3)_2$

le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthoxyphényl]- 3-[3,5-diméthyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-isopropoxy carbonyl

10 diméthylméthoxyphényl]- 3-[3,5-diméthyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one

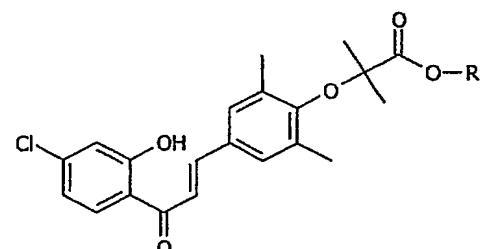
(composé-14) :

 $R = -H, -CH(CH_3)_2$

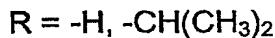
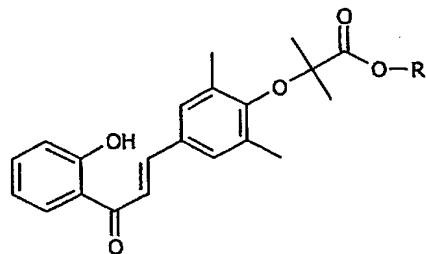
15

le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthyl-4-carboxydiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthyl-4-isopropoxy carbonyldiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-15) :

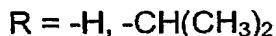
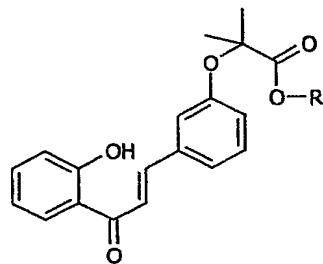
20

 $R = -H, -CH(CH_3)_2$

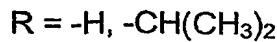
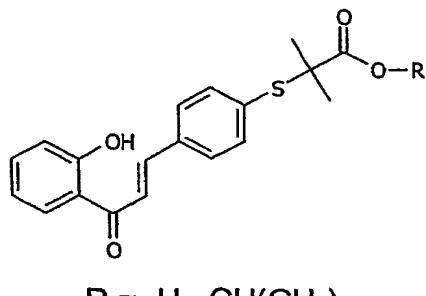
et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-isopropyloxycarbonyl diméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-16) :



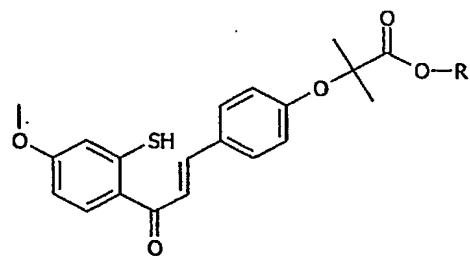
et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-17) :



le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylthiophényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-isopropyloxycarbonyldiméthylthiophényl]prop-2-èn-1-one (composé-18) :



le 1-[2-mercaptop-4-méthoxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-mercaptop-4-méthoxyphényl]-3-[4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-19) :



10 L'invention concerne ainsi l'utilisation d'au moins un composé de formule (I) et en particulier l'un des composés préférés tels que définis ci-dessus pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à traiter de manière préventive ou de préférence curative une pathologie liée à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique, à la prolifération et/ou à la différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central, telles que les allergies, l'asthme, l'eczéma, le psoriasis, les démangeaisons, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, le diabète, l'athérosclérose, l'obésité, la carcinogenèse, etc.

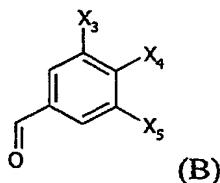
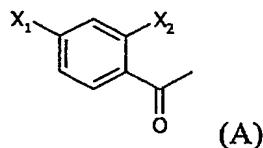
15

La présente invention fournit également un procédé de préparation de composés ou dérivés de formule (I).

Ce procédé de préparation présente de nombreux avantages. Il est simple à mettre en œuvre industriellement et permet d'obtenir un rendement élevé en composés de formule (I).

5 Le procédé de la présente invention comprend une mise en contact en milieu basique ou en milieu acide d'au moins un composé de formule (A) avec au moins un composé de formule (B), les formules (A) et (B) étant :

10



formules dans lesquelles X1, X2, X3, X4 et X5 ont les définitions données précédemment.

15

Les conditions de mise en œuvre de cette réaction en milieu acide ou basique sont à la portée de l'homme du métier et peuvent varier dans une large mesure.

20

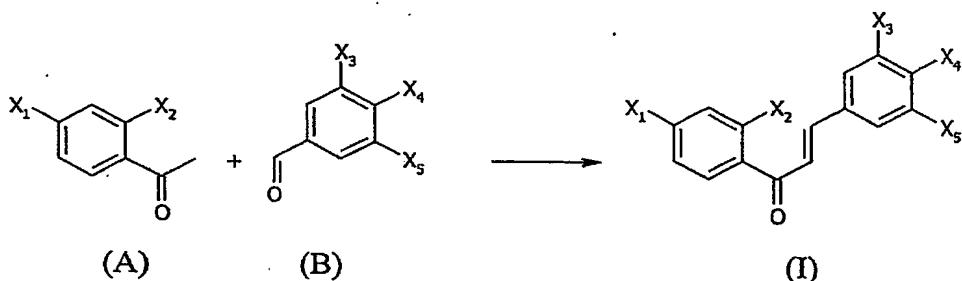
La mise en contact de ces deux composés est avantageusement réalisée de manière stoechiométrique. Elle est réalisée de préférence à une température ambiante (entre environ 18°C et 25°C) et à pression atmosphérique.

25 En milieu basique, la réaction est de préférence réalisée en présence d'une base forte, tel qu'un hydroxyde de métal alcalin, comme l'hydroxyde de sodium.

En milieu acide, la réaction est de préférence réalisée en présence d'un acide fort, tel que l'acide chlorhydrique.

Le schéma réactionnel peut être représenté comme suit :

5



10 La synthèse en milieu basique peut être réalisée de la façon suivante :

La cétone (composé (A)) à 1 équivalent-molaire et l'aldéhyde (composé (B)) à 1 équivalent-molaire sont solubilisés dans une solution hydroalcoolique d'hydroxyde de sodium à 20 équivalents-molaire. L'ensemble est agité pendant environ 18 heures à température ambiante (entre 18 et 25°C). Le milieu est ensuite acidifié (pour atteindre en particulier un pH d'environ 2) notamment avec de l'acide chlorhydrique.

La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée attendue peut être obtenue par précipitation ou extraction solide/liquide après évaporation du milieu réactionnel. Elle peut être ensuite purifiée par chromatographie sur gel de silice ou par recristallisation.

La synthèse en milieu acide peut être réalisée de la façon suivante :

25 La cétone (composé (A)) à 1 équivalent-molaire et l'aldéhyde (composé B) à 1 équivalent-molaire sont solubilisés dans une solution d'éthanol saturée d'acide chlorhydrique gazeux. L'ensemble est agité à température ambiante pendant environ 6 heures, le solvant est éliminé, notamment par évaporation sous

pression réduite. La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée est purifiée, notamment par chromatographie sur gel de silice.

5 L'invention concerne ainsi l'utilisation d'un composé ou dérivé tel que défini ci-avant pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à la mise en œuvre d'une méthode de traitement ou de prophylaxie du corps humain ou animal.

10 Les compositions pharmaceutiques selon l'invention sont avantageusement utilisées pour le traitement ou la prophylaxie des pathologies liées à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique, à la prolifération et/ou à la différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central et plus particulièrement d'une ou plusieurs allergies, de l'asthme, de l'eczéma, du psoriasis, des démangeaisons, de la maladie d'Alzheimer, de la maladie de 15 Parkinson, du diabète, de l'athérosclérose, de l'obésité, de la carcinogenèse, etc.. Il a en effet été trouvé de manière surprenante que les composés de formule (I) possèdent des propriétés pharmacologiques anti-oxydantes ainsi que des propriétés d'activation de PPAR α avantageuses.

20 L'invention concerne ainsi plus particulièrement l'utilisation d'au moins un dérivé tel que défini précédemment pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à traiter de manière préventive ou de préférence curative une pathologie liée à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux 25 dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique, à la prolifération et/ou à la différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central et plus particulièrement d'une ou plusieurs allergies, de l'asthme, de l'eczéma, du psoriasis, des démangeaisons, de la maladie d'Alzheimer, de la maladie de Parkinson, du diabète, de l'athérosclérose, de l'obésité, de la carcinogenèse, 30 caractérisé en ce que le dérivé de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitué présente une formule générale (I) telle que définie précédemment, y compris éventuellement les composés de formule générale (I) dans laquelle :

- X_1 , X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_8R_9-COOR_{10}$, avec R_8 et R_9 , identiques ou différents, représentent un radical alkyle de C1-C2, et R_6 représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7, et

- X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_1 représente un atome d'halogène ou un radical R1 ou $-G1R1$, où R1 représente un radical alkyle non substitué de C1-C2 et G1 représente un atome d'oxygène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_{11}R_{12}-COOR_{10}$, avec R_{11} et R_{12} , identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C2, et R_{10} représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7.

L'invention concerne également une méthode de traitement des pathologies liées à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique, à la prolifération et/ou à la différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central et plus particulièrement d'une ou plusieurs allergies, de l'asthme, de l'eczéma, du psoriasis, des démangeaisons, de la maladie d'Alzheimer, de la maladie de Parkinson, du diabète, de l'athérosclérose, de l'obésité, de la carcinogenèse, comprenant l'administration à un sujet, notamment humain, d'une dose efficace d'un composé ou d'une composition pharmaceutique tels que définis ci-dessus, y compris les composés de formule générale (I) dans laquelle :

- X_1 , X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_8R_9-COOR_{10}$, avec R_8 et R_9 , identiques ou différents, représentent un radical alkyle de C1-C2, et R_6 représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7, et

- X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_1 représente un atome d'halogène ou un radical R1 ou $-G1R1$, où R1 représente un radical alkyle non substitué de C1-C2 et G1 représente un atome d'oxygène, X_6

représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_{11}R_{12}-COOR_{10}$, avec R_{11} et R_{12} , identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C2, et R_{10} représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7.

5

De préférence, la méthode de traitement des pathologies liées à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique, à la prolifération et/ou à la différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central et plus particulièrement d'une ou plusieurs allergies, de l'asthme, de l'eczéma, du psoriasis, des démangeaisons, de la maladie d'Alzheimer, de la maladie de Parkinson, du diabète, de l'athérosclérose, de l'obésité, de la carcinogenèse, comprend l'administration à un sujet, notamment humain, d'une dose efficace d'un composé de formule (I) ou d'une composition pharmaceutique tels que définis ci-dessus, à l'exclusion des composés de formule générale (I) dans laquelle :

- X_1 , X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_8R_9-COOR_{10}$, avec R_8 et R_9 , identiques ou différents, représentent un radical alkyle de C1-C2, et R_6 représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7, et

- X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_1 représente un atome d'halogène ou un radical R_1 ou $-G_1R_1$, où R_1 représente un radical alkyle non substitué de C1-C2 et G_1 représente un atome d'oxygène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_{11}R_{12}-COOR_{10}$, avec R_{11} et R_{12} , identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C2, et R_{10} représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention comprennent avantageusement un ou plusieurs excipients ou véhicules, acceptables sur le plan pharmaceutique. On peut citer par exemple des solutions salines,

physiologiques, isotoniques, tamponnées, etc., compatibles avec un usage pharmaceutique et connues de l'homme du métier. Les compositions peuvent contenir un ou plusieurs agents ou véhicules choisis parmi les dispersants, solubilisants, stabilisants, conservateurs, etc.. Des agents ou véhicules utilisables dans des formulations (liquides et/ou injectables et/ou solides) sont notamment la méthylcellulose, l'hydroxyméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, le polysorbate 80, le mannitol, la gélatine, le lactose, des huiles végétales, l'acacia, etc. Les compositions peuvent être formulées sous forme de suspension injectable, de gels, huiles, comprimés, suppositoires, poudres, gélules, capsules, etc., éventuellement au moyen de formes galéniques ou de dispositifs assurant une libération prolongée et/ou retardée. Pour ce type de formulation, on utilise avantageusement un agent tel que la cellulose, des carbonates ou des amidons.

15 Les composés ou compositions selon l'invention peuvent être administrés de différentes manières et sous différentes formes. Ainsi, ils peuvent être administrés par voie orale ou systémique, comme par exemple par voie intraveineuse, intra-musculaire, sous-cutanée, trans-dermique, intra-artérielle, etc.. Pour les injections, les composés sont généralement conditionnés sous forme de suspensions liquides, qui peuvent être injectées au moyen de seringues ou de perfusions, par exemple. Il est entendu que le débit et/ou la dose injectée peuvent être adaptés par l'homme du métier en fonction du patient, de la pathologie, du mode d'administration, etc.. Typiquement, les composés sont administrés à des doses pouvant varier entre 1 µg et 2 g 20 /administration, préférentiellement de 0,1 mg à 1 g/administration. Les administrations peuvent être quotidiennes ou répétées plusieurs fois par jour, le cas échéant. D'autre part, les compositions selon l'invention peuvent comprendre, en outre, d'autres agents ou principes actifs.

30 D'autres aspects et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture des exemples qui suivent, qui doivent être considérés comme illustratifs et non limitatifs.

LEGENDES DES FIGURES

5 Figure 1 :Evaluation des propriétés antioxydante du composé-2 sur l'oxydation des LDL par le dihydrochloride d'azobis (2-amidinopropane) (AAPH)

10 Sur la figure 1-a sont représentés les résultats de l'expérience mesurant la formation de diènes conjugués en fonction du temps. On peut observer que l'incubation des LDL avec le composé-2, à des concentrations de 10^{-3} M et 10^{-4} M, retardé la formation de diènes conjugués. La Lag-Phase est de 22,6 minutes pour l'AAPH seul, alors que le délai d'apparition des diènes conjugués passe à 92 minutes lorsque les LDL sont incubés avec le composé-2 à 10^{-3} M et à 61,2 minutes à 10^{-4} M. Ce retard de formation de diènes conjugués est caractéristique de produits antioxydants.

15 20 La figure 1-b représente la vitesse de formation des diènes en fonction des différents traitements. L'incubation du composé-2 avec les LDL en présence de AAPH ralentit la vitesse de formation des diènes conjugués. La vitesse de formation des diènes conjugués est de 0,85 nmol/min/mg de LDL avec l'AAPH seul, cette vitesse est diminuée de 80% (0,17 nmol/min/mg de LDL) avec le composé-2 à 10^{-3} M et de 20% (0,68 nmol/min/mg de LDL) à 10^{-4} M.

25 La Figure 1-c représente la quantité maximum de diènes conjugués formée au cours du temps. L'incubation des LDL avec l'AAPH entraîne la formation de 180 nmol/mg de LDL de diènes conjugués, l'incubation avec le composé-2 à 10^{-3} M diminue de 33% la formation de diènes conjugués (120 nmol/mg de LDL).

30 Figure 2 :Evaluation des propriétés antioxydante du composé-5 sur l'oxydation des LDL par le dihydrochloride d'azobis (2-amidinopropane) (AAPH)

Sur la figure 2-a sont représentés les résultats de l'expérience mesurant la formation de diènes conjugués en fonction du temps. On peut observer que

l'incubation des LDL avec le composé-5, à des concentrations de 10^{-4} M, 10^{-5} M et 10^{-6} M retarde la formation de diènes conjugués. La Lag-Phase est de 134,1 minutes pour l'AAPH seul, alors que le délai d'apparition des diènes conjugués dépasse les 480 minutes (de la mesure expérimentale), lorsque les LDL sont incubés avec le composé-5 à 10^{-4} M. L'incubation avec le composé-5 à 10^{-5} M décale la Lag-Phase à 327,1 minutes et, à 10^{-6} M, cette valeur atteint 193,5 minutes. Ce retard de formation de diènes conjugués est caractéristique de produits antioxydants.

La figure 2-b représente la vitesse de formation des diènes en fonction des différents traitements. L'incubation du composé-5 avec LDL en présence de AAPH ralentit la vitesse de formation des diènes conjugués. La vitesse de formation des diènes conjugués est de 1,22 nmol/min/mg de LDL avec l'AAPH seul, cette vitesse est non déterminée (non mesurable car trop faible) avec le composé-5 à 10^{-4} M, elle est diminuée de 53% (0,58 nmol/min/mg de LDL) avec le composé-5 à 10^{-5} M et elle est réduite de 8% avec le composé-5 à 10^{-6} M (1,12 nmol/min/mg de LDL).

La Figure 2-c représente la quantité maximum de diènes conjugués formée au cours du temps. L'incubation des LDL avec l'AAPH entraîne la formation 555 nmol/mg de LDL de diènes conjugués, l'incubation avec le composé-5 à 10^{-4} M diminue de 83% la formation de diènes conjugués (97 nmol/mg de LDL), de 72% (157 nmol/mg de LDL) à 10^{-5} M et de 9% (507 nmol/mg de LDL) à 10^{-6} M.

Figure 3 :Evaluation des propriétés antioxydante du composé-5 sur l'oxydation des LDL par le cuivre (Cu)

Sur la figure 3-a sont représentés les résultats de l'expérience mesurant la formation de diènes conjugués en fonction du temps. On peut observer que l'incubation des LDL avec le composé-5, à des concentrations de 10^{-4} M, 10^{-5} M et 10^{-6} M retarde la formation de diènes conjugués. La Lag-Phase est de 72,9 minutes pour le cuivre seul alors que le délais d'apparition des diènes conjugués

dépasse les 480 minutes (de la mesure expérimentale) lorsque les LDL sont incubés avec le composé-5 à 10^{-4} M. Le composé-5 à 10^{-5} M décale la Lag-Phase à 333,2 minutes et à 10^{-6} M à 142,6 minutes. Ce retard de formation de diènes conjugués est caractéristique de produits antioxydants.

5 La figure 3-b représente la vitesse de formation des diènes en fonction des différents traitements. L'incubation du composé-5 avec les LDL en présence de cuivre ralentit la vitesse de formation des diènes conjugués. La vitesse de formation des diènes conjugués est de 4 nmol/min/mg de LDL avec le cuivre seul, cette vitesse est non déterminée avec le composé-5 à 10^{-4} M (non mesurable car trop faible), elle est diminuée de 87,5% (0,5 nmol/min/mg de LDL) à 10^{-5} M et de 12,5% à 10^{-6} M (3,5 nmol/min/mg de LDL).

10 La Figure 3-c représente la quantité maximum de diènes conjugués formée au cours du temps. L'incubation des LDL avec le cuivre entraîne la formation 555 nmol/mg de LDL de diènes conjugués, l'incubation avec le composé-5 à 10^{-4} M diminue de 83% la formation de diènes conjugués (97 nmol/mg de LDL), de 15 72% (157 nmol/mg de LDL) à 10^{-5} M et 9% (507 nmol/mg de LDL) à 10^{-6} M.

20 Figure 4 : évaluation des propriétés agonistes PPAR α des composés selon l'invention avec le système de transactivation PPAR α /Gal4.

25 Les cellules RK13 sont incubées avec différents composés au concentrations suivantes 10, 30 et 100 μ M pendant 24h. les résultats sont représentés par le facteur d'induction (signal luminescent par rapport aux cellules non traitées) en fonction des différents traitements, plus le facteur d'induction est élevé meilleure est la propriété d'agoniste pour PPAR α . Les résultats montrent que le composé-1 permet l'induction d'un facteur 30 aux concentrations utilisées, le composé-2 à un facteur d'induction maximal de 60 à 100 μ M de 22 à 30 μ M et de 4 à 10 μ M. Le composé-10 active le système avec un facteur d'induction de 10 pour les 30 concentrations 10 et 30 μ M. Le composé-11 possède un facteur d'induction de

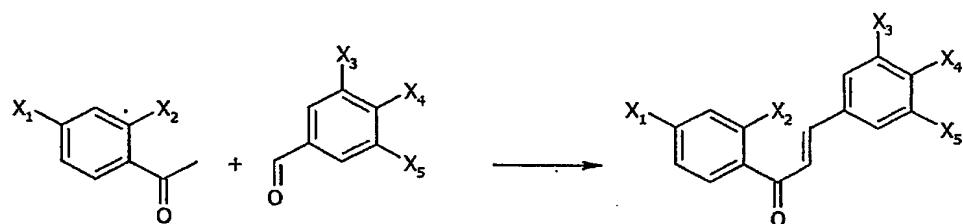
10 pour la plus forte concentration 100 μM , de 5 à 30 μM et de 3 à 10 μM . Le composé-15 permet l'activation du système avec un facteur de 37 à 100 μM , 50 à 30 μM et 35 à 10 μM . Le composé 17 a un facteur d'induction de 28 à 100 μM mais à 30 μM ce dernier est de 5 et, à 10 μM , il atteint 2.

5 Ces résultats montrent que les composés selon l'invention testés possèdent la propriété de ligand vis à vis de PPAR α et permettent aussi son activation au niveau transcriptionnel.

10

EXEMPLES

EXEMPLE 1 : Synthèse des composés selon l'invention



15

Synthèse en milieu basique :

La céto (1 éq) et l'aldéhyde (1 éq) sont solubilisés dans une solution hydroalcoolique d'hydroxyde de sodium (20 éq). L'ensemble est agité 18h00 à température ambiante. Le milieu est acidifié (pH = 2) avec de l'acide chlorhydrique.

20

La 1,3-diphénylprop-2-én-1-one substituée attendue est obtenue par précipitation ou extraction solide liquide après évaporation du milieu réactionnel. Elle est purifiée par chromatographie sur gel de silice ou par recristallisation.

25

1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[4-carboxydiméthylméthoxyphényl] 1,3-diphénylprop-2-én-1-one substituée :

Purification : Recristallisation dans l'éthanol

RMN 1H CDCl₃ δppm : 1.57 (s, 6 H), 6.8 (d, J = 8.55Hz, 2H), 7.1 (m, 2H), 7.8 (m, 4H), 8.24 (d, J = 8.52 Hz, 2 H), 12.8 (signal, 1H), 13.3 (signal, 1H)

Exemple de préparation d'une 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée sous forme ester à partir de l'acide correspondant :

La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée sous forme acide (1 éq) est solubilisée dans le dichlorométhane. Le dichlorométhylméthylether (3 éq) est ajouté ; L'ensemble est maintenu 8h00 à reflux. Le solvant et l'excès de réactif sont éliminés par évaporation sous pression réduite. Le résidu d'évaporation est repris par de l'isopropanol (50 éq). Après 12h00 d'agitation à température ambiante, l'isopropanol est éliminé par évaporation sous pression réduite. La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée sous forme ester pure est obtenue par purification sur gel de silice.

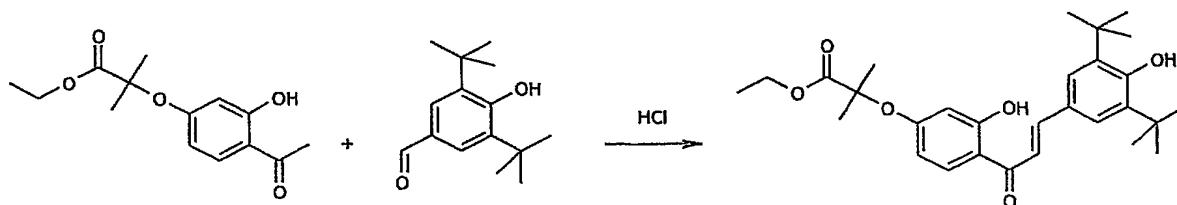
15

Exemple : 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[4-isopropyloxycarbonyldiméthyl oxyphényl]prop-2-èn-1-one :

RMN 1H CDCl₃ δppm : 1.21 (d, 6H, J = 6.09Hz), 1.65 (s, 6 H), 5.10 (m, 1H), 6.86 (d, J = 8.65Hz, 2H), 6.95 (m, 1H), 7.02 (dd, J=8.65Hz, J = 1.53Hz, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.54 (d, J=15.25Hz, 1H), 7.57 (d, J=8.65Hz), 7.87 (d, J=15.25Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.40 Hz, 1 H), 12.94 (signal échangeable D₂O, 1H)

Synthèse en milieu acide :

25



1-[2-hydroxy-4-éthoxycarbonyldiméthylméthoxyphényl]-3-[3,5-diterbuthyl4-hydroxyphényl]-prop-2-èn-1-one :

5 La cétone (1 éq) et l'aldéhyde (1 éq) sont solubilisés dans une solution d'éthanol saturée d'acide chlorhydrique gazeux. L'ensemble est agité à température ambiante pendant 6h puis le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one est purifiée par chromatographie sur gel de silice.

10 RMN 1H CDCl₃ δppm : 1.26 (t, J = 7.11, Hz 3 H), 1.45 (s, 18H), 1.7 (s, 6H), 4.25 (q, J = 7.11 Hz), 5.62 (signal 1H), 6.33 (d, J = 2.37, 1H), 6.42 (dd, J = 2.37 et 8.88 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 7.50 (s, 2H), 7.82 (d, J = 8.88 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 15.4 Hz, 1H).

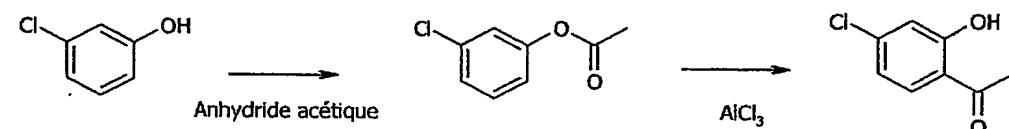
Bibliographie : Adams *et al*, J Org Chem, 1967, 3992-3998

15 Préparation des matières premières spécifiques :

1-Céttones :

4'-chloro-2'-hydroxyacétophénone :

20



Acétate de 3-chlorophényle

Le 3-chlorophénol est solubilisé dans le dichlorométhane. La triéthylamine (1 éq) et l'anhydride acétique(2 éq) sont ajoutés. L'ensemble est agité 5h00 à température ambiante. Le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. Le résidu d'évaporation est repris par du dichlorométhane. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium. Le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. L'acétate de 3-chlorophényle brut est utilisé pour la réaction suivante.

30 RMN 1H CDCl₃ δppm: 2.29 (s, 3 H), 6.99-7.33 (m, 4 H)

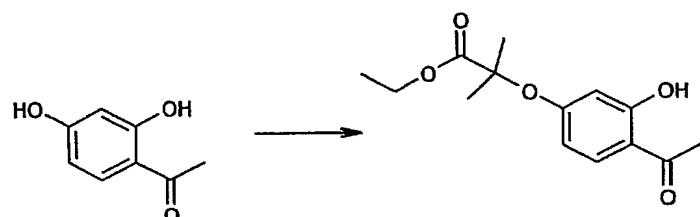
4'-Chloro-2'-hydroxyacétophénone

L'acétate de 3-chlorophényle est mélangé au chlorure d'aluminium (3 éq), le mélange est chauffé 1h00 à 200°C. Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante puis versé dans la glace. La phase aqueuse est extraite par du chlorure de méthylène, la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice.

RMN 1H CDCl₃ δppm: 3.41 (s, 3 H), 6.81 (dd, J = 8.82Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 7.60 (d, 8.82Hz, 1 H), 12.33 (s, 1H)

10

Bibliographie : Chen *et al*, J Chem Soc, 1958, 146-148.

2'-Hydroxy-4'-(éthoxycarbonyldiméthylméthoxy)acétophénone :

15

La 2',4'-dihydroxyacétophénone est solubilisée dans de l'acétone anhydre, le carbonate de potassium (2 éq) puis le 2-bromo-2-méthylpropanoate d'éthyle (1 éq) sont ajoutés. L'ensemble est maintenu 24h00 sous vive agitation à reflux.

20

L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante, les sels sont éliminés par filtration. La 2'-Hydroxy-4'-(éthoxycarbonyldiméthylméthoxy)acétophénone pure est obtenue par chromatographie sur gel de silice.

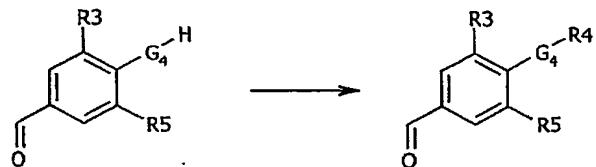
RMN 1H CDCl₃ δppm : 1.25 (t, J = 7.17 Hz, 3H), 1.67 (s, 6H), 2.56 (s, 3H), 4.24 (q, J = 7.17, 2H), 6.27 (d, J = 2.55 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 2.55Hz, J = 8.72 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.72, 1H), 12.6 (signal, 1H).

Bibliographie : Brevet US n°3,629,290 (1970), Fisons Pharmaceutical

30

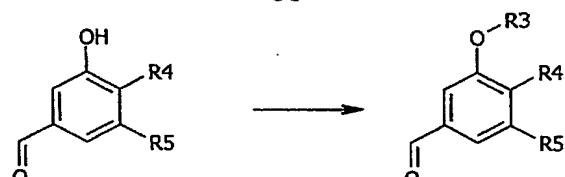
2-Aldéhydes :

5



$\text{R}_3, \text{R}_5 = \text{H, CH}_3, \text{OCH}_3, \text{G}_4 = \text{O, S}$
 $\text{R}_4 = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$

OU



10

$\text{R}_4, \text{R}_5 = \text{H}$
 $\text{R}_3 = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$

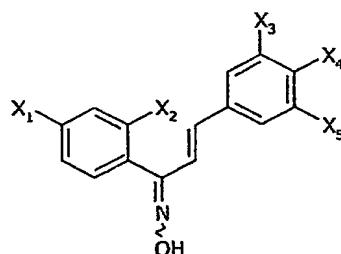
L'aldéhyde est solubilisé dans de l'acétone anhydre. Le carbonate de potassium est ajouté (2 éq) puis le 2-bromo-2-méthylpropanoate d'éthyle (2 éq). Le milieu réactionnel est maintenu 18h00 sous agitation à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. Une fois la réaction terminée, le milieu est ramené à température ambiante, les sels sont éliminés par filtration. Le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. Le résidu est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice.

20

Exemple : 4-(Ethoxycarbonyldiméthylméthoxy)benzaldéhyde :

RMN 1H CDCl₃ δppm: 1.21 (t, J = 6.96Hz, 3 H), 1.67 (s, 6H), 4.21 (q, 6.96 2H), 6.88 (d, J = 8.91Hz, 2 H), 7.77 (d, J = 8.94Hz, 2 H), 9.87 (s, 1H)

1,3-diphénylprop-1-hydroxyiminoprop-2-ène :



25

La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée est solubilisée dans du méthanol, La pyridine est ajoutée (4 éq) puis le chlorhydrate d'hydroxylamine. Le milieu réactionnel est porté à léger reflux, l'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. Une fois la réaction terminée, le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. Le résidu est repris par du dichlorométhane. La phase organique est lavée par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0,1 N puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis le chlorure de méthylène est éliminé par évaporation sous pression réduite. Le 1,3-diphénylprop-1-hydroxyiminoprop-2-ène substitué pur est obtenu après purification sur gel de silice.

EXEMPLE 2 : Evaluation de l'activation des PPARs *in vitro*

15 Les composés selon l'invention, possédant une fonction acide carboxylique, testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

20 Les récepteurs nucléaires membres de la sous-famille des PPARs qui sont activés par deux classes majeures de composés pharmaceutiques, les fibrates et les glitazones, abondamment utilisées en clinique humaine pour le traitement des dislipidémies et du diabète, jouent un rôle important dans l'homéostasie lipidique et glucidique. Les données expérimentales suivantes montrent que les composés selon l'invention activent PPAR α *in vitro*.

25 L'activation des PPARs est évaluée *in vitro* dans des lignées de type fibroblastique RK13 par la mesure de l'activité transcriptionnelle de chimères constituées du domaine de liaison à l'ADN du facteur de transcription Gal4 de levure et du domaine de liaison du ligand des différents PPARs. Ces derniers résultats sont ensuite confirmés dans des lignées cellulaires selon les protocoles suivants :

L'exemple est donné pour les cellules RK13.

a. Protocoles de culture

5 Les cellules RK13 proviennent de l' ECACC (Porton Down, UK) et sont cultivées dans du milieu DMEM supplémenté de 10% vol/vol sérum de veau foetal, 100 U/ml pénicilline (Gibco, Paisley, UK) et 2 mM L-Glutamine (Gibco, Paisley, UK). Le milieu de culture est changé tous les deux jours. Les cellules sont conservées à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5% de CO₂ et 95% 10 d'air.

b. Description des plasmides utilisés

15 Les plasmides pG5TkpGL3, pRL-CMV, pGal4-hPPAR α , pGal4-hPPAR γ et pGal4- ϕ ont été décrits par Raspe, Madsen et al. (1999). Les constructions pGal4-mPPAR α et pGal4-hPPAR β ont été obtenues par clonage dans le vecteur pGal4- ϕ de fragments d'ADN amplifiés par PCR correspondants au domaines DEF des récepteurs nucléaires PPAR α de souris et PPAR β humain.

c. Transfection

20 Les cellules RK13 sont ensemencées dans des boîtes de culture de 24 trous à raison de 5x10⁴ cellules/trou et sont transfectées pendant 2 heures avec le plasmide rapporteur pG5TkpGL3 (50 ng/trou), les vecteurs d'expression pGal4- ϕ , pGal4-mPPAR α , pGal4-hPPAR α , pGal4-hPPAR γ , pGal4-hPPAR β (100 ng/trou) et le vecteur de contrôle de l'efficacité de transfaction pRL-CMV (1 ng/trou) suivant le protocole décrit précédemment (Raspe, Madsen et al. 1999) 25 et incubées pendant 36 heures avec les composés testés. A l'issue de l'expérience, les cellules sont lysées (Gibco, Paisley, UK) et les activités luciférase sont déterminées à l'aide du kit de dosage Dual-LuciferaseTM Reporter Assay System (Promega, Madison, WI, USA) selon la notice du fournisseur

comme décrit précédemment (Raspe, Madsen et al. 1999). Le contenu en protéine des extraits cellulaires est ensuite évalué à l'aide du kit de dosage Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, München, Allemagne) selon la notice du fournisseur.

5 Les inventeurs mettent en évidence une augmentation de l'activité luciférase dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention et transfectées avec le plasmide pGal4-hPPAR α . Cette induction de l'activité luciférase indique que les composés selon l'invention sont des activateurs de PPAR α . Un exemple de résultats obtenu avec différents composés selon l'invention est présenté sur
10 la figure 4.

Un aspect de l'invention est illustré par le traitement de maladies comme l'athérosclérose et le psoriasis dont les manifestations sont respectivement 15 d'ordre vasculaires et cutanées. Les caractéristiques de ces deux pathologies sont une inflammation systémique chronique et une prolifération cellulaire incontrôlée (cellules musculaires lisses dans le cas de l'athérosclérose et kératinocytes épidermiques dans le cas du psoriasis). Ces deux pathologies ont en commun l'expression de cytokines inflammatoires, médiée par un facteur de 20 transcription de la réponse inflammatoire NF-kB, AP-1 et NFAT (Komuves, Hanley et al. 2000; Neve, Fruchart et al. 2000). Via une régulation négative sur la voie de signalisation NF-kB et AP-1, PPAR alpha inhibe l'expression de gènes impliqués dans la réponse inflammatoire comme celle de gènes codant pour 25 l'interleukine-6, la cyclooxygénase-2, l'endothéline-1 et donc empêche la mobilisation des monocytes et des cellules spumeuses au niveau des lésions athéromateuses.

EXEMPLE 3 : Evaluation des effets sur le métabolisme lipidique in vivo

Les composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

Les fibrates, abondamment utilisés en clinique humaine pour le traitement des dislipidémies impliquées dans le développement de l'athérosclérose, une des principales causes de mortalité et de morbidité dans les sociétés occidentales, sont de puissants activateurs du récepteur nucléaire PPAR α . Celui-ci régule l'expression de gènes impliqués dans le transport (apolipoprotéines telles que Apo AI, Apo AII et Apo CIII, transporteurs membranaires tel que FAT) ou le catabolisme des lipides (ACO, CPT-I ou CPT-II). Un traitement par les activateurs de PPAR α se traduit donc, chez l'homme et le rongeur, par une diminution des taux circulants de cholestérol et de triglycérides.

Les protocoles suivants permettent de mettre en évidence une baisse du taux de triglycéride et du taux de cholestérol circulant, ainsi que l'intérêt des composés selon l'invention dans le cadre de la prévention et/ou du traitement des maladies cardio-vasculaires.

a) Traitement des animaux

Des rats Wistar de 150 g (Iffa Credo, L'Arbresle, France) sont maintenus sous un cycle lumière/obscurité de 12 heures à une température constante de 20 \pm 3°C. Après une acclimatation d'une semaine, les rats sont pesés et rassemblés par groupes de 6 animaux sélectionnés de telle sorte que la distribution de leur poids corporel soit uniforme. Les composés testés sont suspendus dans la carboxymethylcellulose et administrés par gavage intra-gastrique, à raison d'une fois par jour pendant 7 jours, aux doses indiquées. Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture. A l'issue de l'expérience les animaux sont pesés et sacrifiés sous anesthésie. Le sang est collecté sur EDTA. Le plasma est préparé par centrifugation à 3000 tours/minutes pendant 20 minutes. Des échantillons de foie sont prélevés et conservés congelés dans de l'azote liquide pour analyse ultérieure.

b) Mesure des lipides et apolipoprotéines sériques

Les concentrations sériques des lipides (cholestérol total et cholestérol libre, triglycérides et phospholipides) sont mesurées par dosage colorimétrique (Boehringer, Mannheim, Allemagne) selon les indications du fournisseur. Les concentrations sériques des apolipoprotéines AI, AI et CIII sont mesurées selon les méthodes décrites précédemment (Raspé et al. J. Lipid Res. 40, 2099-2110, 1999, Asset G et al., Lipids, 34, 39-44, 1999).

c) Analyse des ARNs

L'ARN total a été isolé des fragments de foie par extraction à l'aide du mélange thiocyanate de guanidine/phénol acide/chloroforme suivant le protocole décrit précédemment (Raspé et al. J. Lipid Res. 40, 2099-2110, 1999). Les ARN messagers ont été quantifiés par RT-PCR quantitative à l'aide du kit Light Cycler Fast Start DNA Master Sybr Green I kit (Hoffman-La Roche, Basel, Suisse) sur un appareil Light Cycler System (Hoffman-La Roche, Basel, Suisse). Des paires d'amorces spécifiques des gènes ACO, Apo CIII et Apo AI ont été utilisées comme sondes. Des paires d'amorces spécifiques des gènes 36B4, β -actine et cyclophiline ont été utilisées comme sondes témoin. Alternativement, l'ARN total a été analysé par Northern Blot ou Dot Blot suivant le protocole décrit précédemment (Raspé et al. J. Lipid Res. 40, 2099-2110, 1999).

EXEMPLE 4 : Evaluation des propriétés antioxydantes des composés selon l'invention

Un aspect particulièrement avantageux de l'invention est illustré par le rôle des propriétés antioxydantes intrinsèques des composés utilisés dans les compositions selon l'invention dans le contrôle du stress oxydatif. Cette association originale entre la propriété d'agonistes de PPAR α et le caractère antioxydant représente un moyen efficace pour le traitement de pathologies liées à une modification du statut redox de la cellule. Cette illustration s'applique notamment à une pathologie comme la maladie d'Alzheimer pour laquelle les radicaux libres jouent un rôle déterminant.

Chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, le statut oxydatif est modifié dans les cellules du cerveau. Les radicaux libres sont ainsi responsables de la peroxydation lipidique et de l'oxydation des protéines ainsi que de celle des acides nucléiques (ADN/ARN). Ces oxydations modifient les propriétés biologiques des biomolécules et conduisent à la dégénérescence neuronale (Butterfield, Drake et al. 2001). NF- κ B est connu comme un facteur de transcription sensible au statut redox des cellules. Il est donc fortement impliqué dans la réponse au stress oxydatif puisqu'il permet l'activation de gènes cibles de l'inflammation (Butterfield, Drake et al. 2001). Les composés utilisés dans les compositions selon l'invention présentent donc la propriété originale d'empêcher l'activation de la voie NF- κ B à deux niveaux différents, en inhibant son activation par les radicaux libres (antioxydant) mais également en prévenant son activité transcriptionnelle (agoniste PPAR α).

Les composés selon l'invention constituent un moyen nouveau pour lutter contre les effets du vieillissement et plus particulièrement contre ceux du photovieillissement UV-induit où les radicaux libres participent activement à la mise en place des désordres qui vont de l'érythème cutané et la formation de rides à des pathologies plus graves comme les cancers cutanés (spino et baso-cellulaire ainsi que le mélanome).

Le métabolisme est responsable de la production de radicaux libres, mais des facteurs environnementaux comme les rayons ionisants, excitants (ultraviolets) ou les médiateurs de l'inflammation (cytokines), les agents chimiothérapeutiques, l'hyperthermie sont de puissants activateurs des espèces radicalaires et engendrent un déséquilibre de la balance redox dans la cellule.

Lorsque le stress est sévère, la survie de la cellule dépend alors de sa capacité à s'adapter, à résister au stress et à dégrader les molécules endommagées. Dans le processus de vieillissement, la capacité des cellules à se défendre de manière appropriée à une attaque oxydative est capitale, aussi l'augmentation de la capacité des cellules à résister à ces attaques doit permettre d'apporter une solution pour lutter contre l'apparition des effets du vieillissement et doit favoriser une augmentation de la longévité de l'organisme.

Le rayonnement solaire peut modifier la composition de certaines molécules de l'organisme. Les UVB ont longtemps été considérés comme seuls en cause dans les effets néfastes du soleil sur l'organisme. On sait maintenant que les UVA peuvent avoir un effet néfaste direct mais surtout qu'ils potentialisent l'effet des UVB. Les principales molécules susceptibles d'être modifiées, souvent de façon néfaste mais aussi de façon bénéfique, sont :

- L'ADN, dans lequel il peut se former des dimères de thymine sous l'action des UVB. Bien que l'ADN n'absorbe pas les UVA, ces derniers peuvent causer des dommages du matériel génétique et donc être mutagènes. Une pathologie comme le *Xeroderma pigmentosum*, qui résulte de l'absence ou de l'altération des mécanismes de réparation de l'ADN, favorise l'apparition de cancers des kératinocytes basaux.

- Les protéines, qui peuvent être modifiées dans leur structure spatiale. De nombreuses protéines peuvent ainsi être inactivées : enzymes, transporteurs, canaux ioniques, protéines du cytosquelette, récepteurs. Ces modifications peuvent être induites par les UVB et les UVA.

- Les lipides, qui peuvent subir une peroxydation par les UVA, cette peroxydation étant proportionnelle au degré d'insaturation des acides gras.

Les protocoles suivants mettent en évidence les propriétés antioxydantes intrinsèques des composés utilisés dans les compositions selon l'invention pour la prévention et/ou le traitement des désordres liés au stress oxydatif.

1. Protection de l'oxydation des LDL par le cuivre ou le dihydrochloride d'azobis (2-amidinopropane) (AAPH) :

Les composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

L'oxydation des LDL est une modification importante et joue un rôle prépondérant dans la mise en place et le développement de l'athérosclérose (Jurgens, Hoff et al. 1987). Le protocole suivant permet la mise en évidence des propriétés antioxydantes des composés. Sauf indication contraire, les réactifs proviennent de chez Sigma (St Quentin, France).

5 Les LDL sont préparés suivant la méthode décrite par Lebeau et al. (Lebeau, Furman et al. 2000).

10 Les solutions de composés à tester sont préparées à 10^{-2} M dans de l'éthanol et diluées dans du PBS pour avoir des concentrations finales allant de 0,1 à 100 μ M pour une concentration totale d'éthanol de 1% (v/v).

15 Avant l'oxydation, l'EDTA est retiré de la préparation de LDL par dialyse. L'oxydation à ensuite lieu à 30°C en ajoutant 100 μ l d'une solution à 16,6 μ M de CuSO₄ ou de 2 mM de AAPH à 800 μ L de LDL (125 μ g de protéines/ml) et 100 μ l d'une solution du composé à tester. La formation de diènes, l'espèce à observer, se mesure par densité optique à 234 nm dans les échantillons traités avec les composés mais avec ou sans cuivre (ou AAPH). La mesure de la densité optique à 234 nm est réalisée toutes les 10 minutes pendant 8 heures à l'aide d'un spectrophotomètre thermostaté (Kontron Uvikon 930). Les analyses 20 sont réalisées en triplicata. Nous considérons que les composés ont une activité antioxydante lorsqu'ils induisent un décalage de phase par rapport à l'échantillon témoin. Les inventeurs mettent en évidence que les composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, retardent l'oxydation des LDL (induite par le cuivre), ceci indiquant 25 que les composés selon l'invention possèdent un caractère antioxydant intrinsèque. Un exemple de résultats est donné sur les figures 1, 2 et 3 où les propriétés antioxydantes des composés 2 et 5 sont illustrées.

2. Evaluation de la protection conférée par les composés selon l'invention vis-à-vis de la peroxydation lipidique :

Les composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

5 La mesure de l'oxydation des LDL est réalisée par la méthode des TBARS.

Selon le même principe que celui décrit précédemment, les LDL sont oxydés avec du CuSO₄ et la peroxydation lipidique est déterminée de la manière suivante :

10 Les TBARS sont mesurés à l'aide d'une méthode spectrophotométrique. L'hydroperoxydation lipidique est mesurée en utilisant l'oxydation peroxyde-lipide dépendante de l'iodide en iodine. Les résultats sont exprimés en nmol de malondialdehyde (MDA) ou en nmol d'hydroperoxyde/mg de protéines.

15 Les résultats obtenus précédemment, en mesurant l'inhibition de la formation de diènes conjugués, sont confirmés par les expériences de mesure de peroxydation lipidique des LDL. Les composés selon l'invention protègent également de manière efficace les LDL contre la peroxydation lipidique induite par le cuivre (agent oxydant).

BIBLIOGRAPHIE

5 - Braissant, O. and W. Wahli (1998). "Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptor- alpha, -beta, and -gamma during rat embryonic development." Endocrinology **139**(6): 2748-54.

10 - Butterfield, D. A., J. Drake, et al. (2001). "Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid beta-peptide." Trends Mol Med **7**(12): 548-54.

15 - Desvergne, B. and W. Wahli (1999). "Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism." Endocr Rev **20**(5): 649-88.

20 - Finkel, T. and N. J. Holbrook (2000). "Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing." Nature **408**(6809): 239-47.

25 - Fruchart, J. C., B. Staels, et al. (2001). "PPARS, metabolic disease and atherosclerosis." Pharmacol Res **44**(5): 345-52.

30 - Gilgun-Sherki, Y., E. Melamed, et al. (2001). "Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier." Neuropharmacology **40**(8): 959-75.

35 - Guerre-Millo, M., P. Gervois, et al. (2000). "Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity." J Biol Chem **275**(22): 16638-42.

40 - Hourton, D., P. Delerive, et al. (2001). "Oxidized low-density lipoprotein and peroxisome-proliferator-activated receptor alpha down-regulate platelet-activating-factor receptor expression in human macrophages." Biochem J **354**(Pt 1): 225-32.

45 - Kliewer, S. A., S. S. Sundseth, et al. (1997). "Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma." Proc Natl Acad Sci U S A **94**(9): 4318-23.

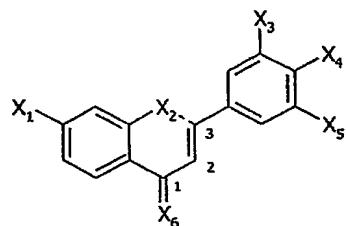
50 - Komuves, L. G., K. Hanley, et al. (2000). "Stimulation of PPARalpha promotes epidermal keratinocyte differentiation in vivo." J Invest Dermatol **115**(3): 353-60.

55 - Lebeau, J., C. Furman, et al. (2000). "Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids." Free Radic Biol Med **29**(9): 900-12.

- Mates, J. M., C. Perez-Gomez, et al. (1999). "Antioxidant enzymes and human diseases." Clin Biochem **32**(8): 595-603.
- Morliere, P., A. Moysan, et al. (1991). "UVA-induced lipid peroxidation in cultured human fibroblasts." Biochim Biophys Acta **1084**(3): 261-8.
- 5 - Neve, B. P., J. C. Fruchart, et al. (2000). "Role of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in atherosclerosis." Biochem Pharmacol **60**(8): 1245-50.
- Raspe, E., L. Madsen, et al. (1999). "Modulation of rat liver apolipoprotein gene expression and serum lipid levels by tetradecylthioacetic acid (TTA) via PPARalpha activation." J Lipid Res **40**(11): 2099-110.
- Staels, B. and J. Auwerx (1998). "Regulation of apo A-I gene expression by fibrates." Atherosclerosis **137 Suppl**: S19-23.

REVENDICATIONS

1- Composition comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, au moins un dérivé de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués de 5 formule (I) suivante :



(I)

dans laquelle :

10 X1 représente un halogène ou un groupement -R1 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G1-R1,

15 X2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement thionitroso ou un groupement hydroxy ou un groupement alkylcarbonyloxy ou un groupement alkyloxy ou un groupement thiol ou un groupement alkylthio ou un groupement alkylcarbonylthio, X2 peut également représenter un atome d'oxygène ou de soufre lié au carbone 3 de la chaîne propène, pour former un dérivé de type 2-phényl-4H-1-benzopyran-4-one,

20 X3 représente un groupement -R3 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G3-R3,

25 X4 représente un halogène ou un groupement thionitroso ou un groupement -R4 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G4-R4,

X5 représente un groupement -R5 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G5-R5,

X6 est un atome d'oxygène ou un atome d'azote, dans le cas où X6 est un atome d'azote, il porte un atome d'hydrogène ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy,

5 R1, R3, R4, R5, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle substitué ou non par un groupement faisant partie du groupe 1 ou du groupe 2 définis ci-dessous,

10 G1, G3, G4, G5, identiques ou différents, représentent un atome d' oxygène ou de soufre,

avec au moins un des groupements X1, X3, X4 ou X5 répondant à la formule -G-R, et

15 avec au moins un des groupements R1, R3, R4 ou R5 présent sous la forme d'un radical alkyle portant au moins un substituant du groupe 1 ou 2, ledit radical alkyle étant lié directement au cycle ou étant associé à un groupement G selon la formule -GR,

20 les substituants du groupe 1 sont choisis parmi les groupements carboxy de formule : -COOR₆ et les groupements carbamoyle de formule : -CONR₆R₇,

les substituants du groupe 2 sont choisis parmi l'acide sulfonique (SO₃H) et les groupements sulfonamide de formule : -SO₂NR₆R₇

25 avec R₆ et R₇, identiques ou différents, représentant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle éventuellement substitué par au moins un groupe de type 1 ou 2,

30 leurs isomères optiques et géométriques, leurs racémates, leurs tautomères, leurs sels, leurs hydrates et leurs mélanges,

pour le traitement ou la prophylaxie d'une pathologie liée à l'inflammation, à la neurodégénérescence, aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique,

à la prolifération et/ou à la différentiation cellulaire et/ou au vieillissement cutané ou du système nerveux central.

5 2- Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que les dérivés peuvent correspondre à la conformation cis, trans ou leur mélange.

10 3- Dérivés selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils présentent une formule (I) dans laquelle au moins un X1, X3, X4 et X5 comprend une fonction acide ou ester.

15 4- Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que X4 est un groupement thionitroso ou un groupement -R4 ou un groupement répondant à la formule -G4-R4, G4 et R4 étant tels que définis à la revendication 1.

20 5- Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que X2 est un groupement thionitroso ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy ou un groupement thiol ou un groupement alkylthio.

25 6- Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que X4 est un groupement thionitroso ou un groupement -R4 ou un groupement répondant à la formule -G4-R4 et X2 est un groupement thionitroso ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy ou un groupement thiol ou un groupement alkylthio, G4 et R4 étant tels que définis à la revendication 1.

30 7- Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que X1 est un groupement -G1-R1 et en ce que R1 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, avec G1 et le substituant du groupe 1 tels que définis à la revendication 1.

8- Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que X4 est un groupement -G4-R4 et en ce que R4 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, avec G4 et le substituant du groupe 1 tels que définis à la revendication 1.

9- Composition selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisées en ce que X4 est un groupement -G4-R4, R4 est tel que défini à la revendication 1 et X3 ou X5 représente respectivement R3 ou G3R3, d'une part, et R5 ou G5R5, d'autre part, avec R3 ou R5 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini à la revendication 1.

10- Composition selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que X1 est un groupement -G1-R1 dans lequel G1 est un atome d'oxygène et R1 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini à la revendication 1.

11- Composition selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que X4 est un groupement -G4-R4 dans lequel G4 est un atome d'oxygène et R4 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini à la revendication 1.

12- Composition selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que X4 est un groupement -G4-R4 dans lequel G4 est un atome d'oxygène, R4 est tel que défini à la revendication 1 et X3 ou X5 représente respectivement R3 ou G3R3, d'une part, et R5 ou G5R5, d'autre part, avec R3 ou R5 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini à la revendication 1.

13- Composition selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisée en ce que les composés de formule (I) dans laquelle

- X₁, X₂, X₃ et X₅ représentent simultanément un atome d'hydrogène, X₆ représente un atome d'oxygène et X₄ représente un groupement de formule -O-CR₈R₉-COOR₁₀, avec R₈ et R₉, identiques ou différents, représentent un radical alkyle de C1-C2, et R₁₀ représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7, et

30 - X₂, X₃ et X₅ représentent simultanément un atome d'hydrogène, X₁ représente un atome d'halogène ou un radical R1 ou -G1R1, où R1 représente un radical alkyle non substitué de C1-C2 et G1 représente un atome d'oxygène, X₆ représente un atome d'oxygène et X₄ représente un groupement de formule -O-CR₁₁R₁₂-COOR₁₀, avec R₁₁ et R₁₂, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un

radical alkyle de C1-C2, et R₁₀ représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7,
sont exclus.

5 14- Composition selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le composé de formule (I) est choisi parmi le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]- 3-[4-carboxydiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]- 3-[4-isopropoxy carbonyl diméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-isopropoxy carbonyldiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-méthylcarbonyloxyphényl]-3-[4-carboxydiméthyl méthoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-méthylcarbonyloxyphényl]-3-[4-isopropyl oxycarbonyldiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthoxyphényl]-1-hydroxyiminoprop-2-ène et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-isopropoxy carbonyldiméthylméthoxyphényl]-1-hydroxyiminoprop-2-ène, le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthoxyphényl]-3-[3,5-diterbutyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-éthoxy carbonyldiméthylméthoxyphényl]-3-[3,5-diterbutyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthoxy-4-hydroxy-5-tertbutyl phényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-isopropoxy carbonyldiméthyl méthoxy-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyl-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-isopropoxy carbonyldiméthylméthyl-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3-carboxydiméthyl méthyl-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3-isopropoxy carbonyldiméthylméthyl-4-hydroxy-5-tertbutylphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-carboxydiméthylméthoxy]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-isopropoxy carbonyldiméthylméthoxy phényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-carboxydiméthylméthoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-isopropoxy carbonyl]

diméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]-3-[3,5-di-méthoxy-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,4-dihydroxy-5-carboxydiméthylméthyoxyphényl]-2-prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthyl-4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthyl-4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthylthiophényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthylthiophényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-mercaptop-4-méthyoxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-mercaptop-4-méthyoxyphényl]-3-[4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyoxyphényl]prop-2-èn-1-one.

15. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que la pathologie liée à l'inflammation est choisie parmi l'athérosclérose, une allergie, l'asthme, l'eczéma, le psoriasis et les démangeaisons.

16. Composition selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que la pathologie liée à la neurodégénérescence est la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson.

17. Composition selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que la pathologie liée aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique est choisie parmi le diabète, l'athérosclérose et l'obésité.

18. Composition selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que la pathologie liée à la prolifération et/ou à la différentiation cellulaire est choisie parmi la carcinogenèse, le psoriasis et l'athérosclérose.

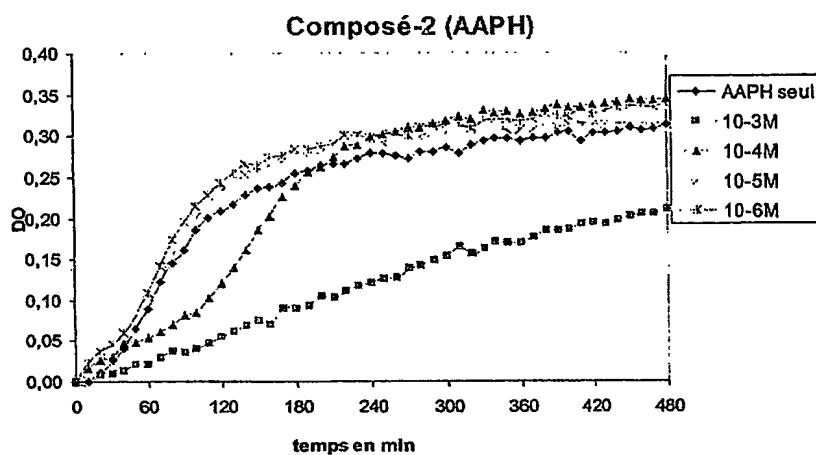


Figure 1-a

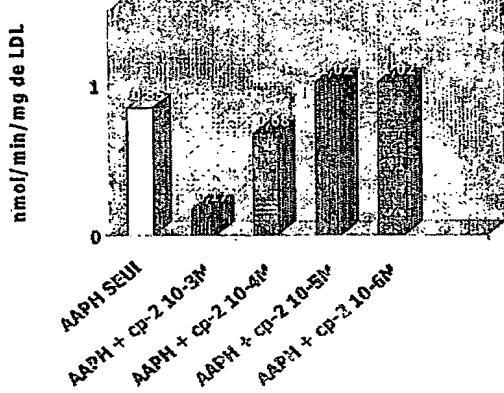


Figure 1-b

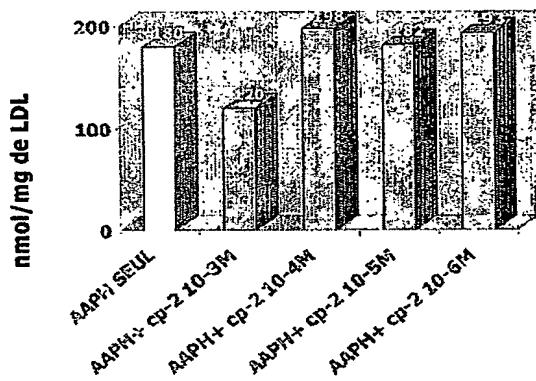


Figure 1-c

Figure 1

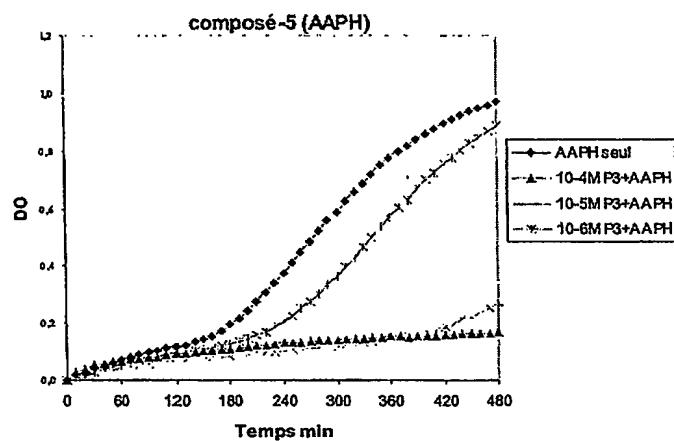


Figure 2-a

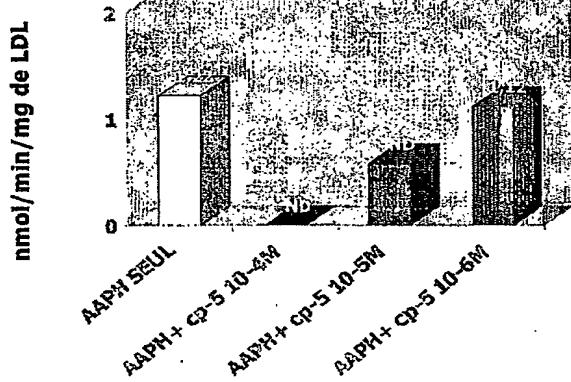


Figure 2-b

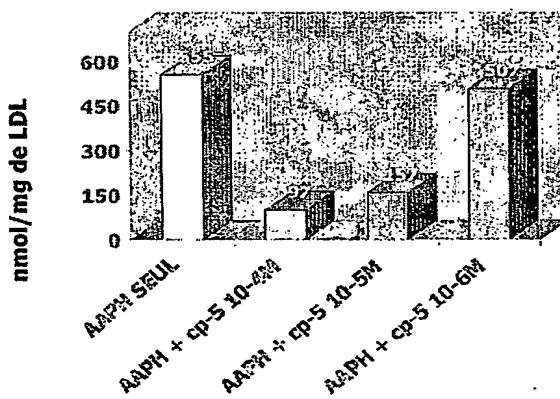


Figure 2-c

Figure 2

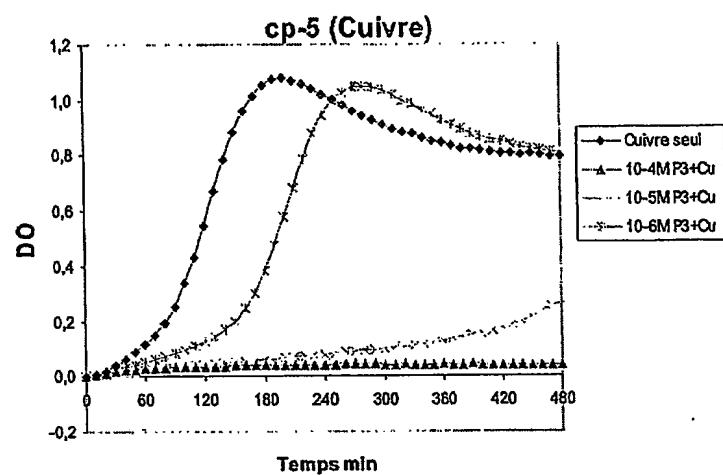


Figure 3-a

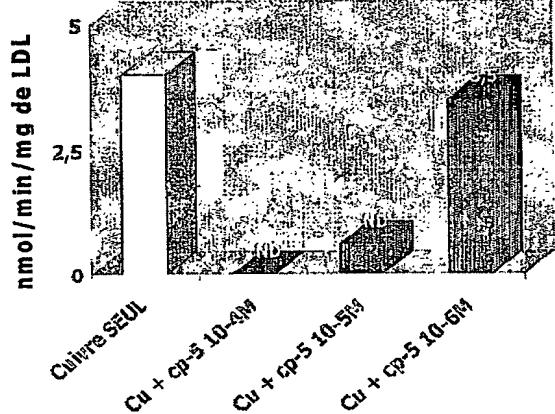


Figure 3-b

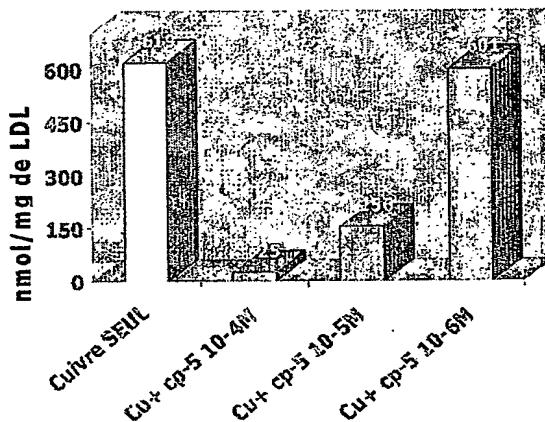


Figure 3-c

Figure 3

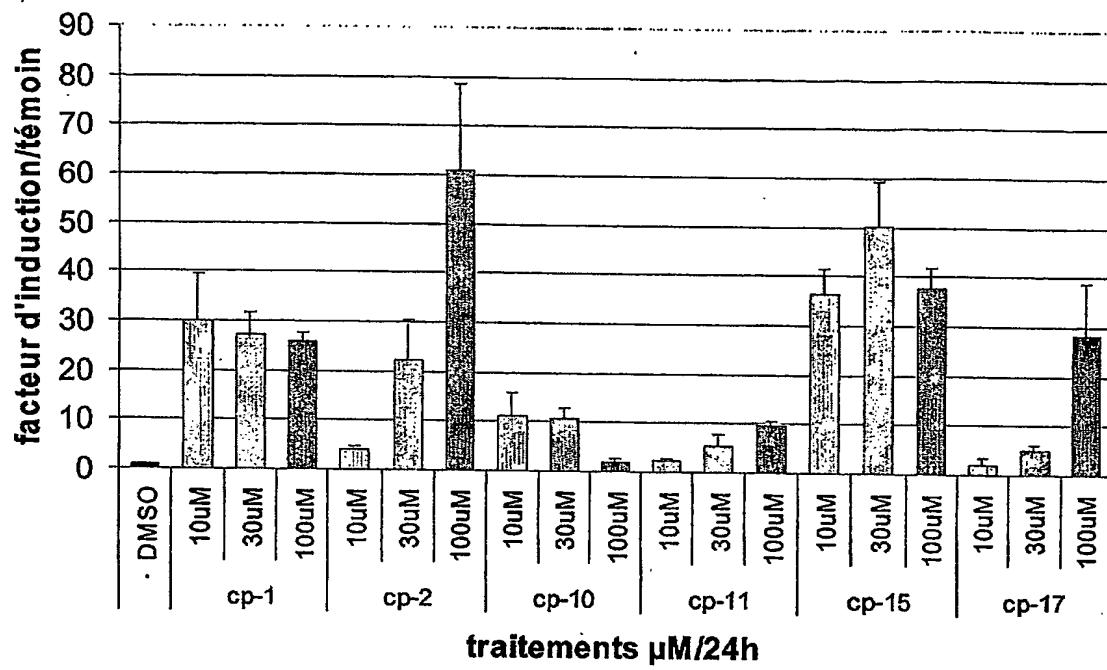


Figure 4

DÉPARTEMENT DES BREVETS

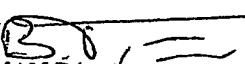
26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1. / 1.

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W/260699

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B0136FR	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		02 08570	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Composition à base de dérivés de 1,3-diphénylprop-2-en-1-one substitués, préparation et utilisations			
LE(S) DEMANDEUR(S) : GENFIT			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		NAJIB	
Prénoms		Jamila	
Adresse	Rue	185, rue Clémenceau	
	Code postal et ville	59211	SANTES
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		CAUMONT-BERTRAND	
Prénoms		Karine	
Adresse	Rue	31, rue Olivier de Serres	
	Code postal et ville	59930	LA CHAPELLE D'ARMENTIERES
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
DATE ET SIGNATURE(S)			
DU (DES) DEMANDEUR(S)			
OU DU MANDATAIRE			
(Nom et qualité du signataire)			
le 29 août 2002			
 TEZIER HERMAN Béatrice n° 00-10000			

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.